

Union of Soviet
Socialist Republics



State Committee for
Inventions and
Discoveries under
USSR Council of
Ministers

SPECIFICATION OF INVENTION SECURED BY INVENTORS CERTIFICATE

(61) Related by № -

(22) Filing date 30.06.1977 (N°2502377/28-13)

Related by continuation to application -

(23) Priority claimed -

(43) Published on 30.10.1978 Gazette No. 40

(45) Publication date of the specification
05.10.1978

(11) 629927

(51) Int.Cl.²
A 61K 39/00

(53) UDC 616-097
(088.8)

Inventors G.A.Sennikov, V.I.Shvets, I.I.Golbets, G.L.Orlova
and Y.M.Krasnopolsky

Applicants Bacterial Preparations Plant and Moscow's Lomonosov Order of Labour Red
Banner Institute of Fine Chemical Technology

CARDIOLIPIN ANTIGEN

1

The invention relates to the field of medicine and concerns diagnostic reagents for research and analysis of biological systems.

There is known a cardiolipin antigen for diagnosing syphilis, the antigen comprising cardiolipin, lecithin, cholesterol, absolute ethyl alcohol.

The known cardiolipin antigen however does not provide high-accuracy diagnostics.

The object of the present invention is to increase accuracy of diagnostics.

To attain the object of the invention, the proposed cardiolipin antigen additionally comprises butylhydroxytoluene with the following ratio of components, % by weight:

Cardiolipin	$15 \cdot 10^{-3}$ - $17 \cdot 10^{-3}$
Lecithin	$58 \cdot 10^{-3}$ - $62 \cdot 10^{-3}$
Cholesterol	$2.9 \cdot 10^{-1}$ - $3.1 \cdot 10^{-1}$
Butylhydroxytoluene	$15 \cdot 10^{-3}$ - $17 \cdot 10^{-3}$
Absolute ethyl alcohol	the rest

Antigen is composed as follows:

Prepared precursors - alcoholic solutions of industrial cardiolipin and lecithin - are concentrated before integrating them into the antigen, determining qualitative composition and phospholipid density.

2

Used are thin-layer chromatography on silica gel and gravimetric analysis.

After fractionating the precursors by thin-layer chromatography, concentration ratio of cardiolipin and lecithin (in % to other components of the respective precursor) is determined. Hereupon the content of industrial phospholipid (taking into account of a dry residue therein) that should be taken to compose this type of the preparation is calculated.

This method of composing a cardiolipin antigen provide a constant, strictly defined content of cardiolipin and lecithin (thus, for example, $10 \cdot 10^{-3}$ wt% of cardiolipin and $60 \cdot 10^{-3}$ wt% of lecithin). If the concentration of phospholipids in a cardiolipin precursor is 3.8 mg/mL, and the content of truth cardiolipin therein is 68 wt%, then it is necessary to take 6.1 mL of industrial cardiolipin to 100 mL of alcoholic solution of antigen to obtain the truth cardiolipin concentration of $16 \cdot 10^{-3}$ wt% in the prepared antigen. Lecithin is calculated similarly. Cholesterol is added on the basis of $2.9 \cdot 10^{-1}$ - $3.1 \cdot 10^{-1}$ wt% in the prepared preparation.

Preparations comprising $15.0 \cdot 10^{-3}$ and $17.0 \cdot 10^{-3}$ wt% of cardiolipin as well as $58.0 \cdot 10^{-3}$ and $62.0 \cdot 10^{-3}$ wt% of lecithin can be prepared in the same

Nos.	Cardiolipin, wt%	Lecithin, wt%	Cholesterol, wt%	Serologic results
1	$10 \cdot 10^{-3}$	$48 \cdot 10^{-3}$	$2.0 \cdot 10^{-1}$	Insufficiently specific
2	$15 \cdot 10^{-3}$	$58 \cdot 10^{-3}$	$2.9 \cdot 10^{-1}$	Sensitive, specific
3	$16 \cdot 10^{-3}$	$60 \cdot 10^{-3}$	$3.0 \cdot 10^{-1}$	Sensitive, specific
4	$17 \cdot 10^{-3}$	$62 \cdot 10^{-3}$	$3.1 \cdot 10^{-1}$	Sensitive, specific
5	$23 \cdot 10^{-3}$	$72 \cdot 10^{-3}$	$4.0 \cdot 10^{-1}$	Not specific

manner.

Test results are outlined in Table for each concentration. Concentrations of ingredients No.1 and 5 are not recommended to use, since they deteriorate the quality of antigen.

Buthylhydroxytoluene is added in the prepared preparation on the basis of the final concentration of $19.5 \cdot 10^{-3}$ - $20.5 \cdot 10^{-3}$ wt%. The preparation is poured into dark glass ampules, the ampules are sealed on the machine in the flow of CO_2 . The ampuled preparation is stored at $2-5^\circ\text{C}$.

The proposed preparation is a stabile preparation having standard composition, which is important for a diagnostic preparation to carry out qualitative serodiagnosis of syphilis.

Claims

A cardiolipin antigen for diagnosing syphilis, comprising cardiolipin, lecithin, cholesterol, absolute ethyl alcohol, *characterized in that* it further comprises buthylhydroxytoluene to increase diagnostic accuracy, with the following quantitative ratio of ingredients, wt% :

Cardiolipin	$15 \cdot 10^{-3}$ - $17 \cdot 10^{-3}$
Lecithin	$58 \cdot 10^{-3}$ - $62 \cdot 10^{-3}$
Cholesterol	$2.9 \cdot 10^{-1}$ - $3.1 \cdot 10^{-1}$
Buthylhydroxytoluene	$15 \cdot 10^{-3}$ - $17 \cdot 10^{-3}$
Absolute alcohol ethyl	the rest



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 629927

(61) Дополнительное к авт. свид-ву —

(22) Заявлено 30.06.77 (21) 2502377/28-13

с присоединением заявки № —

(23) Приоритет —

(43) Опубликовано 30.10.78. Бюллетень № 40

(45) Дата опубликования описания 05.10.78

(51) М. Кл.²

А 61К 39/00

(53) УДК 616-097

(088.8)

(72) Авторы
изобретения

Г. А. Сенников, В. И. Швец, И. И. Гольбец, Г. Л. Орлова
и Ю. М. Краснопольский

(71) Заявители

Завод бактериальных препаратов и Московский ордена
Трудового Красного Знамени институт тонкой химической
технологии им. М. В. Ломоносова

(54) КАРДИОЛИПИНОВЫЙ АНТИГЕН

1

Изобретение относится к области медицины и касается диагностических реагентов для исследования и анализа биологических систем.

Известен кардиолипиновый антиген для диагностики сифилиса, содержащий кардиолипид, лецитин, холестерин, абсолютный этанол.

Однако известный кардиолипиновый антиген не обеспечивает высокой точности диагностики.

Целью изобретения является повышение точности диагностики.

Эта цель достигается тем, что предлагаемый кардиолипиновый антиген дополнительно содержит бутилокситолуол при следующем соотношении ингредиентов, вес. %:

Кардиолипид	15 · 10 ⁻³ — 17 · 10 ⁻³
Лецитин	58 · 10 ⁻³ — 62 · 10 ⁻³
Холестерин	2,9 · 10 ⁻¹ — 3,1 · 10 ⁻¹
Бутилокситолуол	19,5 · 10 ⁻³ — 20,5 · 10 ⁻³
Абсолютный этанол	Остальное

Составляют антиген следующим образом.

Готовые полуфабрикаты — спиртовые растворы технического кардиолипина и лецитина перед сведением в антиген концентрируют, определяя качественный состав и

2

концентрации фосфолипидов. Используют метод тонкослойной хроматографии на силикагеле и весовой анализ.

Расфракционировав полуфабрикаты методом тонкослойной хроматографии, определяют относительную концентрацию кардиолипина и лецитина (в % к остальным компонентам данного полуфабриката). После этого рассчитывают объем технического фосфолипида (с учетом сухого остатка в нем), который следует взять для составления данной серии препарата. Проведенное таким способом составление кардиолипинового антигена обеспечивает постоянное, строго определенное содержание кардиолипина и лецитина (так, например, кардиолипина 10 · 10⁻³ вес. %, лецитина 60 · 10⁻³ вес. %). При этом, если концентрация фосфолипидов в полуфабрикате кардиолипина 3,8 мг/мл, а содержание истинного кардиолипина в нем 68 вес. %, то для получения в готовом антигене концентрации истинного кардиолипина 16 · 10⁻³ вес. % необходимо на 100 мл спиртового раствора антигена взять 6,1 мл технического кардиолипина. Аналогично рассчитывается лецитин. Холестерин добавляют из расчета 2,9 · 10⁻¹ — 3,1 · 10⁻¹ вес. % в готовом препарате.

№№ п/п	Кардиолипин, вес. %	Лецитин, вес. %	Холестерин, вес. %	Серологические результаты
1	$10 \cdot 10^{-3}$	$48 \cdot 10^{-3}$	$2,0 \cdot 10^{-1}$	Недостаточно чувствителен
2	$15 \cdot 10^{-3}$	$58 \cdot 10^{-3}$	$2,9 \cdot 10^{-1}$	Чувствителен, специфичен
3	$16 \cdot 10^{-3}$	$60 \cdot 10^{-3}$	$3,0 \cdot 10^{-1}$	Чувствителен, специфичен
4	$17 \cdot 10^{-3}$	$62 \cdot 10^{-3}$	$3,1 \cdot 10^{-1}$	Чувствителен, специфичен
5	$23 \cdot 10^{-3}$	$72 \cdot 10^{-3}$	$4,0 \cdot 10^{-1}$	Не специфичен

Аналогично могут быть приготовлены препараты, содержащие $15,0 \cdot 10^{-3}$ и $17,0 \cdot 10^{-3}$ вес. % кардиолипина, а также $58,0 \cdot 10^{-3}$ и $62,0 \cdot 10^{-3}$ вес. % лецитина.

Результаты испытаний для каждой концентрации представлены в таблице.

Концентрации ингредиентов № 1 и 5 не рекомендуется использовать, так как они ухудшают качество антигена.

Бутилокситолуол добавляют в готовый препарат из расчета конечной концентрации $19,5 \cdot 10^{-3}$ — $20,5 \cdot 10^{-3}$ вес. %. Препарат разливают в ампулы темного стекла, ампулы запаивают на машине в токе CO_2 . Ампулированный препарат сохраняется при $2-5^\circ\text{C}$.

Предлагаемый антиген является стабильным препаратом стандартного состава, что важно для диагностического препарата, по-

зволяющего проводить качественную серодиагностику сифилиса.

Формула изобретения

Кардиолипидный антиген для диагностики сифилиса, содержащий кардиолипин, лецитин, холестерин, абсолютный этанол, отличающийся тем, что, с целью повышения точности диагностики, он дополнительно содержит бутилокситолуол, при следующем количественном соотношении ингредиентов, вес. %:

Кардиолипин	$15 \cdot 10^{-3}$ — $17 \cdot 10^{-3}$
Лецитин	$58 \cdot 10^{-3}$ — $62 \cdot 10^{-3}$
Холестерин	$2,9 \cdot 10^{-1}$ — $3,1 \cdot 10^{-1}$
Бутилокситолуол	$19,5 \cdot 10^{-3}$ — $20,5 \cdot 10^{-3}$
Абсолютный этанол	Остальное

Составитель С. Малютин

Редактор М. Дмитриева

Техред Н. Рыбкина

Корректоры: Р. Беркович
и Л. Котова

Заказ 1902/10

Изд. № 701
НПО Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Тираж 666

Подписное

Типография, пр. Сапунова, 2